

(51)

Int. Cl. 2:

C 08 G 77/22

(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

C 08 G 77/02

DEUTSCHES



PATENTAMT

DE 27 58 414 A 1

(11)

Offenlegungsschrift 27 58 414

(21)

Aktenzeichen: P 27 58 414.1-44

(22)

Anmeldetag: 28. 12. 77

(43)

Offenlegungstag: 12. 7. 79

(30)

Unionspriorität:

(32) (33) (31) —

(54)

Bezeichnung:

Kieselsäureheteropolykondensate, Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung bei der Züchtung lebender Zellen

(71)

Anmelder:

Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V., 8000 München

(72)

Erfinder:

Schmidt, Helmut, Dr., 8705 Zellingen; Scholze, Horst, Prof. Dr., 8700 Würzburg

Prüfungsantrag gem. § 28b PatG ist gestellt

DE 27 58 414 A 1

Intern. Kl. 2

• 6.79 909 828/34

12/80

2758414

PATENTANWALTE

DR. PETER BARZ (DIPLO.-CHEM.)
 ECKART POHLMANN (DIPLO.-PHYS.)
 DR. HORST SCHMIDT (DIPLO.-ING.)

8000 München 40
 Siegfriedstraße 8
 Telefon 089/3919 39
 Telex 5 215 310 pata d

C 72 Ba/ht.

FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT, München

Kieselsäureheteropolykondensate, Verfahren zu deren Herstellung
 und deren Verwendung bei der Züchtung lebender Zellen

P A T E N T A N S P R U C H E

1. Verfahren zur Herstellung von Kieselsäureheteropolykondensaten, dadurch gekennzeichnet, dass man

a) mindestens ein substituiertes Silan der allgemeinen Formel I



in der R Wasserstoff, Halogen, Alkoxy oder $-\text{NR}'_2$
 (R' = Wasserstoff und/oder nieder-Alkyl) bedeutet,
 R'' Alkyl, Alkenyl, Aryl oder Aralkyl darstellt und n
 eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist, und

- 2 -

909828/0034

ORIGINAL INSPECTED

2758414

- 2 -

b) mindestens ein funktionelles Silan der allgemeinen Formel II



in der R die vorstehende Bedeutung hat, R'' Alkylen, Phenyl, Alkylphenyl oder Alkylenphenyl darstellt, Y Halogen oder eine gegebenenfalls substituierte Amino-, gegebenenfalls substituierte Anilino-, Aldehyd-, Keto-, Carboxy-, Hydroxy-, Mercapto-, Cyano-, Hydroxyphenyl-, Diazo-, Carbonsäurealkylester-, Sulfonsäure- ($-\text{SO}_3\text{H}$) oder Phosphorsäuregruppe ($-\text{PO}_3\text{H}_2$) bedeutet und n eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist, sowie

c) gegebenenfalls mindestens ein hydrolysierbares Kieselsäure-derivat der allgemeinen Formel III



in der R die vorstehende Bedeutung hat, jedoch nicht alle Reste R Wasserstoff sind, und/oder

d) gegebenenfalls mindestens ein im Reaktionsmedium lösliches schwerflüchtiges Oxid oder mindestens eine ein schwerflüchtiges Oxid bildende Verbindung eines Elementes der Gruppen Ia bis Va, IVb oder Vb des Periodensystems

in Gegenwart mindestens der zur Hydrolyse stöchiometrisch erforderlichen Wassermenge sowie gegebenenfalls in Gegenwart eines Kondensationskatalysators und/oder eines Lösungsmittels kondensiert, wobei die Menge der Komponenten (a) bis (d) so gewählt wird, dass das entstehende Kieselsäureheteropolykondensat, bezogen auf Oxide, 60 bis 90 Gewichtsprozent der Komponente (a), 1 bis 15 Gewichtsprozent der Komponente (b), 0 bis 30 Gewichtsprozent der Komponente (c) und 0 bis 40 Gewichtsprozent der Komponente (d) enthält.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Ausgangskomponenten 1 Minute bis 24 Stunden gegebenenfalls in Gegenwart eines Kondensationskatalysators

- 3 -

909828/0034

2758414

- 3 -

und/oder eines Lösungsmittels vorkondensiert und anschliessend in Gegenwart mindestens der zur Hydrolyse stöchiometrisch erforderlichen Wassermenge auskondensiert.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass man die Polykondensation bei Temperaturen von -20 bis +130°C, vorzugsweise 0 bis 65°C und insbesondere bei Raumtemperatur durchführt.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das entstehende Kiesel-säureheteropolykondensat, bezogen auf Oxide, 65 bis 85 Gewichtsprozent, vorzugsweise 75 bis 80 Gewichtsprozent, der Komponente (a), 2 bis 10 Gewichtsprozent, vorzugsweise 4 bis 8 Gewichtsprozent, der Komponente (b), 0 bis 20 Gewichtsprozent, vorzugsweise 0 bis 12 Gewichtsprozent, der Komponente (c) und 0 bis 20, vorzugsweise 0 bis 10 Gewichtsprozent, der Komponente (d) enthält.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass man organische Lösungsmittel, wie Alkohole, Ketone, Ether, Amide oder deren Gemische, verwendet.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass man als Kondensations-katalysatoren Wasser, Säuren, anorganische Basen oder Amine verwendet.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass man den Kondensations-katalysator in einer Menge von bis zu 3 Gewichtsprozent, bezogen auf das Reaktionsgemisch, verwendet.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass man als Komponente (d)

- 4 -

909828/0034

2758414

- 4 -

schwerflüchtige Oxide oder schwerflüchtige Oxide bildende Verbindungen von Natrium, Kalium, Magnesium, Calcium, Bor, Aluminium, Blei, Phosphor, Arsen, Titan, Zirkon und/oder Vanadin verwendet.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass man als schwerflüchtige Oxide bildende Verbindungen anorganische Säuren, deren Ester, Halogenide oder Salze, Metallhydroxide, Metallalkoxide oder Metallsalze von flüchtigen Säuren verwendet.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass man das erhaltene Kiesel-säureheteropolykondensat mit Wasser bzw. Wasserdampf nachbehandelt und/oder bei erhöhter Temperatur wärmebehandelt.

11. Kiesel-säureheteropolykondensate, herstellbar nach dem Verfahren der Ansprüche 1 bis 10.

12. Verwendung der Kiesel-säureheteropolykondensate nach Anspruch 11 als Unterlagen bei der Züchtung von lebenden Zellen.

- 5 -

909828/0034

2758414

PATENTANWALTE

DR. PETER BARZ (DIPLO-CHEM)
ECKART POHLMANN (DIPLO-PHYS)
DR. HORST SCHMIDT (DIPLO-ING)8000 München 40
Siegfriedstraße 8
Telefon 089/391938
Telex 5 215 310 pata d

-5-

C 72 Ba/ht.

FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT, München

Kieselsäureheteropolykondensate, Verfahren zu deren
Herstellung und deren Verwendung bei der Züchtung lebender Zellen

Die Erfindung betrifft neuartige Kieselsäureheteropolykondensate,
ein Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung bei
der Züchtung von lebenden Zellen.

Für histologische, cytologische, molekularbiologische und
ähnliche Untersuchungen werden Gewebe- und Zellkulturen
verwendet, die man üblicherweise vorher in geeigneten Nähr-
medien heranzüchtet. Auch für pharmakologische Untersuchungen
werden in zunehmendem Masse lebende Zellen von höher organi-
sierten Lebewesen, z.B. Leberzellen, eingesetzt. Hierdurch
gelingt es, relevantere, d.h. den tatsächlichen physiologischen
Bedingungen im lebenden Organismus besser Rechnung tragende
Versuchsergebnisse zu erzielen als mit herkömmlichen bio-
chemischen Testmethoden. So ist z.B. die Enzymaktivität häufig
an die physiologischen Bedingungen einer funktionsfähigen

- 6 -

909828/0034

ORIGINAL INSPECTED

2758414

- 6 -

lebenden Zelle gebunden und für zahlreiche biochemische und biologische Abläufe ist die aktive Mitwirkung der Zellwand erforderlich. Diese in vitro-Methoden unter Verwendung von lebenden Zellkulturen eignen sich z.B. zum Testen von Arzneistoffen und zur Entwicklung spezifischer Indikatoren für Zell- und Umweltgifte.

Die Züchtung von lebenden Zellen erfordert hierbei oft spezielle Bedingungen; beispielsweise benötigen aus Körpergeweben stammende Zellen für das Wachstum mechanische Unterlagen, die das Zellwachstum im Verband bzw. in enger Nachbarschaft ermöglichen. Bei herkömmlichen Unterlagen, z.B. Gläsern oder Kunststoffen, tritt hierbei das Problem auf, dass die Zellen schlecht auf der Unterlage haften und sich bei der Kultivierung in Nährlösungen ablösen, so dass die Bedingung eines Wachstums im Verband nicht erfüllt ist. Besonders ausgeprägt ist diese Erscheinung in den Fällen, in denen sehr verdünnte Seren als Nährlösungen verwendet werden.

Es wurde nun gefunden, dass bestimmte Kieselsäureheteropolykondensate als Beschichtungen auf üblichen Trägermaterialien, z.B. Glasgefäßen, zur Lösung des geschilderten Problems hervorragend geeignet sind; d.h. ausgezeichnete Unterlagen zur Züchtung von Gewebe- und Zellkulturen ergeben. Die Zellen sind hierbei - vermutlich durch chemische Bindungskräfte - fest auf der Unterlage gebunden, so dass ein Wachstum im Zellverband gewährleistet ist. Die Kieselsäureheteropolykondensate der Erfindung eignen sich darüberhinaus für verschiedene andere technische Anwendungsbereiche.

Gegenstand der Erfindung sind Kieselsäureheteropolykondensate, die z.B. dadurch hergestellt werden können, dass man

- mindestens ein substituiertes Silan der allgemeinen Formel I

$$\text{SiR}_n\text{R}''_{(4-n)}$$

(I)

- 7 -

909828/0034

2758414

- 7 -

in der R Wasserstoff, Halogen, Alkoxy oder $-NR'^2$ (R' = Wasserstoff und/oder nieder-Alkyl) bedeutet, R'' Alkyl, Alkenyl, Aryl oder Aralkyl darstellt und n eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist, und

b) mindestens ein funktionelles Silan der allgemeinen Formel II
 $SiR_n(R''Y)^{(4-n)}$ (II)
 in der R die vorstehende Bedeutung hat, R'' Alkylen, Phenyl, Alkylphenyl oder Alkylenphenyl darstellt, Y Halogen oder eine gegebenenfalls substituierte Amino-, gegebenenfalls substituierte Anilino-, Aldehyd-, Keto-, Carboxy-, Hydroxy-, Mercapto-, Cyano-, Hydroxyphenyl-, Diazo-, Carbonsäurealkylester-, Sulfonsäure- ($-SO_3H$) oder Phosphorsäuregruppe ($-PO_3H_2$) bedeutet und n eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist, sowie

c) gegebenenfalls mindestens ein hydrolysierbares Kieselsäurederivat der allgemeinen Formel III

SiR_4 (III)

in der R die vorstehende Bedeutung hat, jedoch nicht alle Reste R Wasserstoff sind und/oder

d) gegebenenfalls mindestens ein im Reaktionsmedium lösliches schwerflüchtiges Oxid oder mindestens eine ein schwerflüchtiges Oxid bildende Verbindung eines Elementes der Gruppen Ia bis Va, IVb oder Vb des Periodensystems

in Gegenwart mindestens der zur Hydrolyse stöchiometrisch erforderlichen Wassermenge sowie gegebenenfalls in Gegenwart eines Kondensationskatalysators und/oder eines Lösungsmittels kondensiert, wobei die Menge der Komponenten (a) bis (d) so gewählt wird, dass das entstehende Kieselsäureheteropolykondensat, bezogen auf Oxide, 60 bis 90 Gewichtsprozent der Komponente (a), 1 bis 15 Gewichtsprozent der Komponente (b), 0 bis 30 Gewichtsprozent der Komponente (c) und 0 bis 40 Gewichtsprozent der Komponente (d) enthält.

Bevorzugte Kieselsäureheteropolykondensate der Erfindung enthalten, bezogen auf Oxide, 65 bis 85 Gewichtsprozent, insbesondere 75 bis 80 Gewichtsprozent, der Komponente (a), 2 bis 10 Gewichtsprozent, insbesondere 4 bis 8 Gewichtsprozent der Komponente (b),

909828/0034

- 8 -

2758414

- 8 -

0 bis 20 Gewichtsprozent, insbesondere 0 bis 12 Gewichtsprozent, der Komponente (c) und

0 bis 20 Gewichtsprozent, insbesondere 0 bis 10 Gewichtsprozent, der Komponente (d).

Falls die Komponenten (c) oder (d) verwendet werden, beträgt ihr Mindestanteil üblicherweise 1, vorzugsweise 5 und insbesondere 9 Gewichtsprozent.

Die vorstehenden Mengenangaben beziehen sich auf die Zusammensetzung des Kieselsäureheteropolykondensats aus Oxidbausteinen; d.h. die Komponenten (a) bis (d) werden in Mengen eingesetzt, dass die durch Hydrolyse und Kondensation jeweils entstehende Oxideinheit bzw. das durch Hydrolyse entstehende Oxidäquivalent den angegebenen Gewichtsanteil (Gew.-%) im Endkondensat ausmacht. Die Menge von hydrolysierbaren Silanen der Formel $R_nSi(OR)_{4-n}$ errechnet sich z.B. auf Basis von Oxideinheiten der Formel $R_nSiO_{(4-n)/2}$, während z.B. für Metallalkoholate (d) der Formel MOR das Oxidäquivalent M_2O zugrunde gelegt wird.

Das Mengenverhältnis der Ausgangskomponenten (a) bis (d) bestimmt neben den angewandten Kondensationsbedingungen die Eigenschaften der erhaltenen Kieselsäureheteropolykondensate und insbesondere der daraus hergestellten Beschichtungen. Es hat sich gezeigt, dass die substituierten Silane der Formel (I) in erster Linie für die Hafteigenschaften der Beschichtungen auf den Trägermaterialien, die funktionellen Silane der Formel (II) für die Anzahl der reaktiven Kopplungsstellen an der Beschichtungsoberfläche, die hydrolysierbaren Kieselsäurederivate der Formel (III) für die Oberflächenbeschaffenheit der Beschichtung, insbesondere die spezifische Oberfläche, und die Oxidkomponente (d) für die mechanischen Eigenschaften der Beschichtungen verantwortlich sind. Von kritischer Bedeutung ist hierbei, dass die hydrolysierbaren Kieselsäurederivate der Formel (III) in einem Mengenanteil von weniger als 30 Gewichtsprozent verwendet werden, um eine unerwünschte Porosität der Kieselsäureheteropolykondensate bzw. der daraus hergestellten Beschichtungen zu vermeiden.

Die Komponenten (a) und (c) sind insofern austauschbar, als z.B. anstelle eines Gemisches aus einem Dialkylsilan (a) und einem Orthokieselsäureester (c) eine äquivalente Menge eines ent-

909828/0034

- 9 -

2758414

- 9 -

sprechenden Monoalkylsilane, z.B. $(\text{CH}_3)_2\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ oder $(\text{CH}_3)_2\text{SiCl}_3$, verwendet werden kann.

Bei der Definition der Ausgangsverbindungen der Formeln I bis III können mehrere Reste R, R', R'', R''' bzw. Y jeweils die gleiche oder unterschiedliche Bedeutung haben. Die Alkylreste bedeuten z.B. geradkettige oder verzweigte Reste mit 1 bis 20, vorzugsweise 1 bis 10 Kohlenstoffatomen und insbesondere niedere Alkylreste. Spezielle Beispiele sind Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, sek.-Butyl, tert.-Butyl, Pentyl und n-Hexyl.

Die Arylreste enthalten z.B. 6 bis 25, vorzugsweise 6 bis 14 und insbesondere 6 bis 10 Kohlenstoffatome. Spezielle Beispiele sind Phenyl und Naphthyl, wobei Phenyl bevorzugt ist.

Die Alkenylreste sind z.B. geradkettige oder verzweigte Reste mit 2 bis 20, vorzugsweise 2 bis 10 Kohlenstoffatomen und insbesondere niedere Alkenylreste. Spezielle Beispiele sind Vinyl oder Allyl.

Die Alkylen-, Alkoxy-, Alkylamino- und Aralkylreste leiten sich z.B. von den vorstehend genannten Alkyl- und Arylresten ab. Spezielle Beispiele sind Ethylen, Trimethylen, Methoxy, Ethoxy-, n- und i-Propoxy, n-, sek.- und tert.-Butoxy, Monoethylamino, Dimethylamino, Diethylamino, Benzyl und Toly1.

Der Ausdruck "nieder" bezieht sich auf Reste mit 1 bis 6, vorzugsweise 1 bis 4 und insbesondere 1 bis 2 Kohlenstoffatomen.

Die genannten Reste können gegebenenfalls übliche Substituenten tragen, z.B. Halogenatome, nieder-Alkyl-, Hydroxy-, Nitro- oder Aminogruppen.

- 10 -

909828/0034

2758414

- 10 -

Unter den Halogenen sind Fluor, Chlor und Brom bevorzugt und Chlor besonders bevorzugt.

Bei der Komponente (b) hat n vorzugsweise den Wert 2 oder 3 und insbesondere den Wert 3.

Beispiele für geeignete Ausgangssilane der Formel I sind $(CH_3)_2 SiCl_2$, $(CH_3)_2 Si(OCH_3)_2$, $(CH_3)_2 Si(OC_2H_5)_2$ und $(C_6H_5)_2 SiCl_2$.

Beispiele für geeignete Ausgangssilane der Formel II sind $(C_2H_5O)_3 Si(CH_2)_3 NH_2$ und $(C_2H_5O)_3 Si(CH_2)_3 CN$.

Beispiele für geeignete Ausgangssilane der Formel III sind $(CH_3O)_4 Si$, $(C_2H_5O)_4 Si$, $SiCl_4$ und $HSiCl_3$.

Diese Silane lassen sich nach bekannten Methoden herstellen; vgl. W. Noll, "Chemie und Technologie der Silicone", Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse (1968).

Als Ausgangskomponente (d) werden im Reaktionsmedium lösliche schwerflüchtige Oxide oder schwerflüchtige Oxide bildende Verbindungen von Elementen der Gruppen Ia bis Va, IVb oder Vb des Periodensystems eingesetzt. Diese Verbindungen reagieren

- mit den übrigen Komponenten (a) bis (c) und ermöglichen dadurch eine Modifikation der chemischen und mechanischen Eigenschaften der erhaltenen Kieselsäureheteropolykondensate, insbesondere der daraus hergestellten Beschichtungen.

Die Komponente (d) leitet sich vorzugsweise von folgenden Elementen ab: Na, K, Mg, Ca, B, Al, Pb, P, As, Ti, Zr und/oder V, wobei Na, Ca, Mg, B, Al und P besonders bevorzugt sind.

- 11 -

909828/0034

2758414

- 11 -

Unter den schwerflüchtigen Oxiden sind Na_2O , K_2O , CaO , B_2O_3 , As_2O_3 und P_2O_5 bevorzugt.

Im Reaktionsmedium lösliche, schwerflüchtige Oxide bildende Verbindungen sind z.B. anorganische Säuren, wie Phosphorsäure und Borsäure, sowie deren Ester, Halogenide und Salze. Ferner eignen sich Hydroxide, wie NaOH , KOH oder $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Alkoxide, wie NaOR , KOR , $\text{Ca}(\text{OR})_2$, $\text{Al}(\text{OR})_3$ oder $\text{Ti}(\text{OR})_4$, wobei sich R von niederen Alkoholen, wie Methanol, Ethanol, Propanol oder Butanol, ableitet. Weitere verwendbare Ausgangsverbindungen sind entsprechende Salze mit flüchtigen Säuren, z.B. Acetate, basische Acetate, Formiate, Nitrate und Halogenide, wie basisches Bleiacetat.

Zur Herstellung der Kieselsäureheteropolykondensate werden die Ausgangskomponenten im gewünschten Mengenverhältnis unter Feuchtigkeitsausschluss gegebenenfalls gelöst in einem organischen Lösungsmittel vermischt. Beispiele für geeignete Lösungsmittel sind Alkohole, vorzugsweise niedere Alkohole, wie Methanol und Ethanol, Ketone, vorzugsweise niedere Dialkylketone, wie Aceton und Methylisobutylketon, Ether, vorzugsweise niedere Dialkylether, wie Diethylether, Amide, wie Dimethylformamid, und deren Gemische.

Gleichzeitig oder anschliessend wird mindestens die Wassermenge zugegeben, die zur hydrolytischen Spaltung der vorhandenen hydrolysierbaren Gruppen stöchiometrisch erforderlich ist. Unter "hydrolysierbaren Gruppen" werden hierbei solche Gruppen verstanden, die unter den angewandten Reaktionsbedingungen hydrolysierbar sind, d.h. Si-O-Alkyl, Si-H, Si-Halogen, Metall-O-Alkyl und ähnliche Gruppen. Bezogen auf Alkoxy substituenten beträgt die stöchiometrische Wassermenge beispielsweise 2/3 der zur formelmässigen Hydrolyse sämtlicher Alkoxyreste erforderlichen Wassermenge, da pro 2 Alkoxyreste ein Wassermolekül abgespalten wird.

- 12 -

809828/0034

2758414

- 12 -

Die Polykondensation erfolgt gegebenenfalls unter Zusatz eines Katalysators, z.B. einer Protonen oder Hydroxylionen abspaltenden Verbindung oder eines Amins. Beispiele für geeignete Katalysatoren sind Wasser, Säuren, vorzugsweise flüchtige Säuren, wie Salzsäure oder Essigsäure, anorganische Basen, wie Natrium-, Kalium- oder Calciumhydroxid, oder niedere Alkylamine, wie Triethylamin, wobei Wasser und Säuren bevorzugt sind. Der Katalysator wird vorzugsweise in einer Menge von bis zu 3 Gewichtsprozent, bezogen auf das Reaktionsgemisch, eingesetzt.

Die Polykondensation wird üblicherweise bei Temperaturen von -20 bis +130°C, vorzugsweise 0 bis 65°C und insbesondere bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Kondensationszeit richtet sich nach den jeweiligen Ausgangskomponenten und deren Mengenanteilen, dem verwendeten Katalysator, der Reaktionstemperatur etc. Bei sauren Katalysatoren werden kürzere Kondensationszeiten angewandt.

Das Verfahren der Erfindung wird im allgemeinen in einer Stufe bis zur vollständigen Kondensation durchgeführt. In einer bevorzugten Ausführungsform arbeitet man jedoch zweistufig, indem man die Ausgangskomponenten gegebenenfalls in Anwesenheit eines Katalysators und/oder eines Lösungsmittels 1 Minute bis 24 Stunden unter den vorstehend genannten Temperaturbedingungen vorkondensiert und anschliessend in Gegenwart mindestens der zur Hydrolyse stöchiometrisch erforderlichen Wassermenge auskondensiert.

Während der Vorkondensation findet einerseits eine Umalkoxylierung der Silane statt, andererseits eine über die gewählten Reaktionsbedingungen steuerbare Oligomerisierung unter gleichzeitiger Etherabspaltung. Dabei kann eine auftretende Zyklisierung die Zahl der vernetzbaren Endgruppen reduzieren, was zwangsläufig einen relativ niedrigen Polymerisationsgrad zur Folge hat. Im allgemeinen wird die Vorkondensation soweit durchgeführt, dass das entstehende Vorkondensat noch dünnflüssige Konsistenz hat; d.h. bis zu einem Polymerisationsgrad, der etwa 10 Monomereinheiten entspricht.

- 13 -

909828/0034

2758414

- 13 -

Die Polykondensation kann bei Normaldruck, erhöhtem oder vermindertem Druck durchgeführt werden. Die Vorkondensation kann gegebenenfalls unter Luftausschluss bei Rückflusstemperatur erfolgen.

Die Nachkondensation kann insbesondere bei Verwendung der erfindungsgemäßen Kieselsäureheteropolykondensate als Beschichtungen so durchgeführt werden, dass man das in Lösung befindliche Vorkondensat entweder als solches oder nach Zugabe der zur Hydrolyse stöchiometrisch erforderlichen Wassermenge auf die Unterlage aufbringt, das gegebenenfalls vorhandene Lösungsmittel abdampfen lässt und die aufgebrachte Schicht gegebenenfalls mit Wasser bzw. Wasserdampf behandelt und/oder bei erhöhter Temperatur einbrennt.

Bei dieser Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden üblicherweise 5 bis 40 gewichtsprozentige, vorzugsweise 10 bis 35 gewichtsprozentige und insbesondere 25 bis 30 gewichtsprozentige Lösungen des Vorkondensats entweder als solche oder nach Zugabe der stöchiometrischen Wassermenge auf die Unterlage aufgebracht. Das Abdampfen des Lösungsmittels erfolgt z.B. innerhalb 15 bis 45 Minuten, vorzugsweise 20 bis 40 Minuten, bei erhöhten Temperaturen, z.B. 75 bis 150°C, vorzugsweise 100 bis 120°C. Hierbei bilden sich zwischen den Silanolgruppen des Kieselsäureheteropolykondensats und reaktiven Gruppen an der Oberfläche der Unterlagen kovalente Bindungen aus, so dass die durchkondensierte (vernetzte) Siliconschicht ausgezeichnet auf der Unterlage haftet. Um das Kieselsäureheteropolykondensat vollständig zu vernetzen, kann man die auf die Unterlage aufgebrachte Schicht gegebenenfalls mit Wasser oder Wasserdampf nachbehandeln. Das Wasser bzw. der Dampf können eine Temperatur von 4 bis 150°C aufweisen, wobei die Stabilität der Schicht mit der Temperatur steigt. Die Behandlungszeit beträgt z.B. 2 bis 30 Minuten. Als besonders

- 14 -

909828/0034

2758414

- 14 -

vorteilhaft hat sich eine 10- bis 20-minütige Nachbehandlung mit siedendem Wasser erwiesen. Die Schicht kann anschliessend gegebenenfalls 5 bis 30 Minuten, vorzugsweise 15 bis 25 Minuten, bei Temperaturen von z.B. 100 bis 150°C, vorzugsweise 110 bis 130°C, eingearbeitet werden.

In einer alternativen Ausführungsform wird das nach Zugabe der zur Hydrolyse stöchiometrisch erforderlichen Wassermenge erhaltene Kieselsäureheteropolykondensat durch Abdampfen des Lösungsmittels isoliert und bis zur Verwendung aufbewahrt. Die Beschichtung von Unterlagen erfolgt in diesem Fall ähnlich dem vorstehend beschriebenen Verfahren, wobei das Kondensat gegebenenfalls vorher in einem organischen Lösungsmittel, wie Aceton, aufgelöst wird.

Zur Herstellung beschichteter Substrate können übliche Verfahren angewandt werden, z.B.

- a) Eintauchen der zu beschichtenden Unterlage in eine Lösung des Kieselsäureheteropolykondensats bzw. des Vorkondensats und Abdampfen des Lösungsmittels;
- b) Aufsprühen einer Lösung des Kieselsäureheteropolykondensats auf die zu beschichtende Unterlage und Abdampfen des Lösungsmittels;
- c) Einfüllen einer Lösung des Kieselsäureheteropolykondensats in Behälter oder Gefäße und Abdampfen des Lösungsmittels.

Das Abdampfen des Lösungsmittels kann gegebenenfalls unter verminderter Druck durchgeführt werden. Die Dicke der erhaltenen Siliconschicht hat keinen Einfluss auf deren Funktionstüchtigkeit.

Als Unterlagen kommen beliebige Materialien in Betracht, z.B. Gläser, wie Borsilikatglas, Quarzglas, Minerale, wie Hydroxyapatit, keramische Materialien, wie Porzellan, Steingut oder Schamotte, Metalle, wie Eisen und Aluminium, Metalloxide,

909828/0034

- 15 -

2758414

- 15 -

wie Eisenoxid und Aluminiumoxid, Holz, Papier, Kohlematerialien, Kunststoffe, wie Polyvinylchlorid, Polyethylen, Polypropylen, und organische Hochpolymere, wie Cellulose und Polysaccharide. Die Unterlagen können beliebige geometrische Form haben. Zur Züchtung von Zellkulturen verwendet man vorzugsweise die handelsüblichen Roux-Flaschen.

Im Gegensatz zu herkömmlichen Beschichtungen hat es sich nicht als notwendig erwiesen, die zu beschichtigenen Unterlagen mechanisch vorzubehandeln oder chemisch zu reinigen. Dadurch wird eine erhebliche Zeit- und Kostensparnis erzielt. Ein weiterer Vorteil gegenüber bekannten Beschichtungen besteht darin, dass die erfindungsgemäßen Kieselsäureheteropolykondensate sehr fest auf der Unterlage haften, so dass sich die beschichteten Gegenstände leicht reinigen lassen und mehrmals wieder-verwendet werden können. Im Falle der Züchtung von Zellkulturen in Roux-Flaschen können diese mindestens fünfmal wieder-verwendet werden, während bekannte Produkte nur als Einmal-Flaschen eingesetzt werden. Darüberhinaus sind die erfindungsgemäss beschichteten Gegenstände leicht sterilisierbar, z.B. längere Zeit bei 100 bis 120°C.

Aus den Kieselsäureheteropolykondensaten der Erfindung hergestellte Präparate und Beschichtungen eignen sich als Unterlagen zur Züchtung der verschiedensten ein- oder vielzelligen, pflanzlichen oder tierischen Gewebe- und Zellkulturen für wissenschaftliche und technische Zwecke. Beispielsweise können für virologische Untersuchungen die verschiedensten Zellarten, wie Hühnerfibroblasten, Affennierenzellen, menschliche Amnionzellen und permanente Zellstämme, z.B. HeLa-, KB- und Detroit-6-Stämme gezüchtet werden.

Zur Züchtung von Leberzellen werden diese z.B. in einer geeigneten Nährlösung, wie Eagles-Modified-Medium, vorgezüchtet und dann als Zellsuspension in das mit der Kieselsäureheteropolykondensat-Beschichtung versehene Gefäß, z.B. eine Roux-Flasche,

- 16 -

909828/0034

2758414

- 16 -

eingebraucht. Um das Zellwachstum zu ermöglichen, wird die Flasche mit einem geeigneten Nährmedium gefüllt und gegebenenfalls mit Serum, z.B. Kälberserum, und/oder Embryonalextrakten versetzt. Sobald das gewünschte Wachstumsstadium erreicht ist, erntet man den Zellrasen durch Zugabe einer verdünnten Trypsinlösung und entnimmt die Zellsuspension dem Gefäß.

Zur Züchtung von Gewebe- und Zellkulturen werden übliche Methoden angewandt, wie sie z.B. bei P.F. Kruse jr. , M.K. Patterson jr., "Tissue Culture, Methods and Applications", Academic Press, New York, San Francisco , London (1973), beschrieben sind. Die Zusammensetzung der Siliconbeschichtung richtet sich nach der jeweils zu züchtenden Gewebe- oder Zellart. Der Fachmann kann aufgrund seiner Fachkenntnis oder nach Durchführung weniger orientierender Versuche die zur Züchtung geeigneten, d.h. die erforderliche Biokompatibilität aufweisenden Kieselsäureheteropolykondensate auswählen.

Aufgrund der reaktiven Kopplungsstellen an der Oberfläche der erfindungsgemässen Kieselsäureheteropolykondensate bzw. der daraus hergestellten Beschichtungen können diese für verschiedene andere Anwendungsbereiche eingesetzt werden, z.B. für chromatographische Zwecke. Ein spezielles Anwendungsgebiet, das Gegenstand der Patentanmeldung P ... ist und für das daher in der vorliegenden Anmeldung kein Schutz beansprucht wird, ist die Fixierung von biochemischen Materialien, z.B. Antigenen, Antikörpern, Hormonen, Aminosäuren, Haptenen, Proteinen und Enzymen. Die kovalente Ankopplung der biochemischen Materialien erfolgt nach bekannten Methoden der organischen und Biochemie; vgl. z.B. US-PS 3 652 761. Die erhaltenen stabilisierten biochemischen Präparate eignen sich z.B. als Trennmittel oder Adsorbentien in biochemischen Verfahren, etwa für Radioimmunoassays, Enzymimmunoassays oder für die Affinitätschromatographie.

- 17 -

909828/0034

2758414

- 17 -

Bei der Fixierung biochemicaler Materialien und auch in anderen Anwendungsbereichen kann es vorteilhaft sein, die funktionellen Gruppen des Kieselsäureheteropolykondensats nach üblichen Methoden der organischen Chemie zu modifizieren. Je nach der Reaktivität der funktionellen Gruppen der anzukoppelnden Verbindungen oder Materialien bzw. der Kieselsäureheteropolykondensatschicht kann man zunächst das Kieselsäureheteropolykondensat derivatisieren und anschliessend die gewünschte Verbindung oder das Material ankoppeln. Als Derivatisierungsmittel kommen z.B. Amine, Carbonsäuren, Säurechloride, Thiocarbamate, Thiocarbaminsäurechlorid, Diazoverbindungen, Ester, Sulfide, etc. in Betracht.

Die Modifizierung eines γ -Aminopropylgruppen enthaltenden Polykondensats kann z.B. derart erfolgen, dass man das Polykondensat 30 bis 60 Minuten bei Raumtemperatur mit einer wässrigen, 2,5 gewichtsprozentigen Glutaraldehydlösung behandelt. Das Diazoderivat des genannten Polykondensats kann z.B. durch Umsetzen mit p-Nitrobenzoylchlorid, Reduktion der Nitrogruppe zum Amin und Diazotierung mit Salpetriger Säure hergestellt werden. Wenn das Kieselsäureheteropolykondensat durch Verwendung geeigneter funktioneller Silane bereits Anilino-gruppen enthält, kann sofort mit Salpetriger Säure diazotiert werden. Durch Umsetzen von Aminogruppen des Kieselsäureheteropolykondensats mit Thiophosgen gelangt man zum Isothiocyanoderivat.

Die Beispiele erläutern die Erfindung.

B e i s p i e l 1

1,70 g Diphenyldichlorsilan und 0,19 g γ -Aminopropyltriethoxysilan werden in 0,40 g Methanol vermischt, mit 2,00 g Wasser versetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur kondensiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels nimmt man das zurückbleibende weisse Pulver in Aceton auf, filtriert von unlöslichen Be-

- 18 -

909828/0034

2758414

- 18 -

standteilen ab und bringt die erhaltene Acetonlösung auf die zu beschichtende Unterlage auf. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels verbleibt eine kompakte glatte Beschichtung, die 15 Minuten mit siedendem Wasser nachbehandelt wird. Beim Umsetzen mit einem pH-Farbindikator zeigt die Oberfläche durch Adsorption des Farbindikators eine basische Reaktion an.

B e i s p i e l 2

8,50g Dimethyldiethoxysilan, 0,10g γ -Aminopropyldiethoxysilan und 1,00g Tetraethoxysilan werden in einem Lösungsmittelgemisch aus 25 ml Aceton und 25 ml Ethanol vermischt und 1 Stunde bei Raumtemperatur vorkondensiert. Anschliessend versetzt man mit 1,00g Wasser bringt die Lösung auf eine zu beschichtende Unterlage auf und dampft das Lösungsmittel bei 100°C ab. Es entsteht eine gut haftende, homogene Beschichtung, die beim Umsetzen mit einem pH-Farbindikator infolge der vorhandenen Aminogruppen eine basische Oberflächenreaktion zeigt.

B e i s p i e l 3

8,50g Dimethyldiethoxysilan, 0,66 g Brompropyltriethoxysilan 0,56 g Tetraethoxysilan und 5,00g einer 10 %igen Lösung von Boroxid (B_2O_3) in Ethanol werden in einem Lösungsmittelgemisch aus 11,8 g Aceton und 11,8 g Ethanol aufgelöst. Das Gemisch wird auf eine zu beschichtende Unterlage aufgebracht und durch Zugabe von 3,00g Wasser bei 70°C kondensiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels bleibt eine homogene klare Schicht auf der Unterlage zurück.

- 19 -

909828/0034

2758414

- 19 -

B e i s p i e l 4

8,50 g Dimethyldiethoxysilan, 0,66 g γ -Aminopropyltriethoxysilan, 0,74 g Tetraethoxysilan und 2 g einer 5 %-igen Methanolösung von Natriummethylat werden in einem Lösungsmittelgemisch aus 11,8 g Aceton und 11,8 g Ethanol vermischt und 12 Stunden unter Luftausschluss vorkondensiert. Hierauf bringt man das Reaktionsgemisch auf eine zu beschichtende Unterlage auf, versetzt mit 1 ml Wasser und kondensiert bei 100°C. Es entsteht eine gut haftende Beschichtung, die beim Umsetzen mit einem pH-Farbindikator infolge der vorhandenen Aminogruppen eine basische Oberflächenreaktion zeigt.

B e i s p i e l 5

0,47 g Tetraethoxysilan und 10 g einer 10 %-igen Lösung eines acetonlöslichen Polykondensats aus 0,25 g Diphenyldichlorsilan und 0,19 g γ -Aminopropyldiethoxysilan werden in 25 g Aceton gelöst und durch Zugabe von 2 ml Wasser auskondensiert. Durch Abdampfen des Lösungsmittels erhält man ein acetonlösliches weisses Pulver. Zur Beschichtung bringt man eine 1 %-ige Acetonlösung des Polykondensats auf eine zu beschichtende Unterlage und dampft das Lösungsmittel bei 50°C ab. Es entsteht eine klare und kompakte, gut haftende Beschichtung, die beim Umsetzen mit pH-Farbindikator eine basische Oberflächenreaktion zeigt.

B e i s p i e l 6

0,32 g Tetramethoxysilan, 0,44 g Borsäuretributylester, 0,20 g einer 1 %-igen Methanolösung von Natriummethylat, 24,40 g einer 10 %-igen Acetonlösung eines löslichen Diphenyl-dichlorsilankondensats und 0,05 g γ -Carbethoxypropyltriethoxysilan werden in Methanol gelöst und mit 0,50 g Wasser versetzt. Die Lösung wird auf eine zu beschichtende Unterlage aufgebracht

- 20 -

909828/0034

2758414

- 20 -

und durch Abdampfen des Lösungsmittels bei 35°C auskondensiert.

Vergleichsbeispiel

4,25 g Dimethyldiethoxysilan, 0,47 g γ -Aminopropyltriethoxysilan und 4,67 g Tetramethoxysilan werden in 30 ml Methanol vermischt und 2 Stunden bei Raumtemperatur unter Luftausschluss vorkondensiert. Hierauf versetzt man mit 3,00 g Wasser, bringt die Lösung auf eine zu beschichtende Unterlage auf und dampft das Lösungsmittel bei 75°C ab. Aufgrund des zu hohen SiO_2 -Gehalts (ca. 60 Gewichtsprozent) entsteht eine nicht haftende poröse Schicht.

Anwendungsbeispiel 1

7,5 ml Aceton p.a., 7,5 ml Ethanol p.a. und 0,6 ml Tetraethoxysilan p.a. werden miteinander vermischt und unter Luftausschluss aufbewahrt (Lösung A). Desgleichen werden 7,5 ml Aceton p.a., 7,5 ml Ethanol p.a. und 0,35 ml γ -Aminopropyltriethoxysilan vermischt und unter Luftausschluss aufbewahrt (Lösung B). Eine Lösung C wird durch Vermischen von 2,5 ml Aceton p.a., 2,5 ml Ethanol p.a. und 10 ml Dimethyldiethoxysilan erhalten und ebenfalls unter Luftausschluss aufbewahrt.

Zur Vorkondensation werden volumenäquivalente Mengen der Lösungen A, B und C gemischt und unter Luftausschluss 2 1/2 Stunden bei Raumtemperatur umgesetzt.

10 ml der Vorkondensatlösung werden mit 0,75 ml Wasser versetzt und in eine Roux-Flasche eingefüllt. Die Auskondensation erfolgt 2 Stunden bei 120°C in einem Trockenschränk unter Abdampfen des Lösungsmittels. Die derart auf der Innenseite beschichtete Flasche wird dann 15 Minuten mit siedendem Wasser gespült und bei 150°C getrocknet.

- 21 -

909828/0034

2758414

- 21 -

Etwa 10^7 Zellen eines Leberzellenpräparates der American Type Culture Collection (Rockville, Maryland, USA) werden 24 Stunden bei 37°C in einem Brutschrank in 50 ml Eagles-Modified-Medium vorgezüchtet. Hierbei werden der Wasserdampf- und Kohlendioxid-Partialdruck so gewählt, dass die Zusammensetzung der Nährlösung unverändert bleibt. Die erhaltene Zellsuspension wird dann in die vorstehend erhaltene beschichtete Roux-Flasche eingefüllt, mit einer geeigneten Menge 10 %-igem Kälberserum als Nährmedium versetzt und bis zur Erschöpfung der Nährlösung gezüchtet. Gegebenenfalls kann man weitere Nährlösung zugeben, um ein weiteres Zellwachstum zu bewirken. Der schliesslich erhaltene dichte Zellrasen wird mit verdünnter Trypsinlösung geerntet und aus der Roux-Flasche entnommen.

Anwendungsbeispiel 2

Lösungen A, B und C werden wie in Beispiel 1 hergestellt. Zur Vorkondensation vermischt man volumenäquivalente Mengen dieser Lösungen, versetzt 10 ml des erhaltenen Gemisches mit 0,2 ml 0,1n-Salzsäure und kondensiert 7 Minuten bei Raumtemperatur.

Die Beschichtung der Roux-Flasche und die Züchtung von Leberzellen erfolgen wie in Beispiel 1. Hierbei werden ähnlich gute Ergebnisse erzielt.

Anwendungsbeispiel 3

Es werden folgende Ausgangslösungen durch Vermischen der Einzelkomponenten hergestellt und unter Luftausschluss aufbewahrt:

Lösung C: 2,5 ml Aceton, 2,5 ml Ethanol und 10 ml Dimethyl-diethoxysilan

Lösung D: 7,5 ml Aceton, 7,5 ml Ethanol und 1,2 ml Tetraethoxysilan

- 22 -

909828/0034

2758414

- 22 -

Lösung E: 7,5 ml Aceton, 7,5 ml Ethanol und 0,7 ml γ -Amino-propyltriethoxsilan.

Gleiche Volumina der Lösungen C, D und E werden miteinander vermischt und 2 Stunden bei Raumtemperatur vorkondensiert.

Die Beschichtung der Roux-Flasche und die Züchtung der Leberzellen erfolgen wie in Anwendungsbeispiel 1. Hierbei werden ähnlich gute Ergebnisse erzielt.

Anwendungsbeispiel 4

Aus 3,5 ml Ethanol und 1,5 ml Diphenyldichlorsilan wird eine Lösung F hergestellt. Gleiche Volumina der Lösungen D, E und F werden miteinander vermischt und 2 Stunden bei Raumtemperatur unter Luftausschluss vorkondensiert.

Die Beschichtung der Roux-Flasche und die Züchtung von Leberzellen erfolgen wie in Anwendungsbeispiel 1. Hierbei werden ähnlich gute Ergebnisse erzielt.

Anwendungsbeispiel 5

Wie in Anwendungsbeispiel 4 werden gleiche Volumina der Lösungen D, E und F miteinander vermischt, worauf man 10 ml des erhaltenen Gemisches mit 2 ml Wasser versetzt und 2 Stunden kondensiert. Das ausfallende Hochpolymere wird abfiltriert, das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen und das zurückbleibende weisse Pulver unter Luftausschluss aufbewahrt.

0,1 g des Polykondensats werden dann in 50 ml Aceton gelöst. Mit 10 ml der erhaltenen Acetonlösung beschichtet man eine Roux-Flasche wie in Anwendungsbeispiel 1. Bei der Züchtung von Leberzellen werden ähnlich gute Ergebnisse wie in Anwendungsbeispiel 1 erhalten.

909828/0034